



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE**

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**PLAZMOVÁ STERILIZÁCIA BIOPOLYMÉROV**

PLASMA STERILIZATION OF BIOPOLYMERS

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

BACHELOR'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Michaela Hantáková**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**doc. RNDr. František Krčma, Ph.D.**

**BRNO 2017**

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1137/2016  
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie  
Studentka: **Michaela Hantáková**  
Studijní program: Chemie a chemické technologie  
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace  
Vedoucí práce: **doc. RNDr. František Krčma, Ph.D.**  
Akademický rok: 2016/17

### Název bakalářské práce:

Plazmová sterilizace biopolymérů

### Zadání bakalářské práce:

Bakalářská práce se zaměřuje na problematiku využití nízkoteplotního nerovnovážného plazmatu elektrických výbojů ke sterilizaci biopolymerních materiálů pro medicínské aplikace. Jednotlivé úkoly jsou následující:

1. Prostudujte současný stav aplikací nízkoteplotního plazmatu pro sterilizaci materiálů.
2. Aplikujte plazma na vybrané biopolymerní materiály.
3. Charakterizujte účinnost plazmové sterilizace v závislosti na experimentálních podmínkách.
4. Vyhodnoťte případné změny vlastností sterilizovaných materiálů.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 19.5.2017

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

-----  
Michaela Hantáková  
student(ka)

-----  
doc. RNDr. František Krčma, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## ABSTRAKT

Táto bakalárska práca sa zaoberá štúdiom nízкотеплотného nerovnovážneho plazmatu elektrických výbojov k sterilizácii biopolymérnych materiálov pre medicínske aplikácie. Bol využitý dielektrický bariérový výboj pri atmosferickom tlaku v plynných zmesiach na báze vzduchu. Ako dielektrikum boli použité sklenené platne, čo zaisťovalo výboj v móde atmosférického tlecieho výboja. Bol skúmaný účinok rôznych fyzikálnych parametrov plazmy ako aj stresových faktorov na účinnosť sterilizácie. Ako modelové mikroorganizmy boli pri štúdiu použité grampozitívne baktérie *Micrococcus Luteus* a gramnegatívne baktérie *Serratia Marcescens*. Vzorky mikroorganizmov boli nanášané na štandardný papier Whatman 1 a na biopolymérne vlákna P<sub>3</sub>HB (obchodná značka Hydal) od spoločnosti Nafigate Corporation, ktoré boli následne vystavené účinkom plazmatu. Experimentálne výsledky sú vyhodnotené pomocou dostupných mikrobiologických analytických metód. Na základe experimentálnych výsledkov môžeme potvrdiť, že plazmová sterilizácia bola úspešná, pričom najlepších výsledkov sa dosiahlo sterilizáciou pomocou DBD generovaného vo vlhkom vzduchu obohatenom o kyslík. V detailnejšom bližšom skúmaní sterilizácie pomocou nízкотеплотnej nerovnovážnej plazmy budeme pokračovať v nadväzujúcej diplomovej práci.

## ABSTRAKT

This thesis is dialled to studying the plasma sterilization of biopolymers using low-temperature non-equilibrium plasma of electrical discharges for the medical applications. The dielectric barrier discharge was generated in atmospheric gases based mixtures at atmospheric pressure. The sodium glass plates were used as dielectric to ensure the discharge operation in the atmospheric pressure glow mode.

The effect of various physical parameters of the plasma as well as the stress factors on the sterilization efficiency were studied. The gram-positive bacteria *Micrococcus Luteus* and gram-negative bacteria *Serratia Marcesceus* were used as the model organisms under the current study. The bacterial samples were deposited on the Whatman 1 paper as well as on the biopolymer fibres made of P<sub>3</sub>HB (trade mark Hydal of company Nafigate Corporation). and then exposed to the plasma. The experimental results are evaluated by the available microbiological analysis methods. The samples were after exposed directly to the plasma. Experimental results were evaluated by the accessible microbiologic techniques. The results confirmed the plasma sterilization success; the best results were obtained using sterilization by DBD generated in wet air enriched by oxygen. The detailed research of sterilization using the low temperature non-equilibrium plasma will be a subject of consequent master Thesis.

## KLÚČOVÉ SLOVÁ

Plazmová sterilizácia, dielektrický bariérový výboj, čiastkové mechanizmy sterilizácie, atmosférický tlecí výboj

## KEY WORDS

Plasma sterilization, dielectric barrier discharge, particular sterilization mechanisms, atmospheric pressure glow discharge

HANTÁKOVÁ, M. *Plazmová sterilizácia biopolymérov*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 35 s. Vedoucí bakalářské práce doc. RNDr. František Krčma, Ph.D

## **PREHLÁSENIE**

Prehlasujem, že som bakalársku prácu na tému „Plazmová Sterilizácia Biopolymérov“ vypracovala samostatne pod vedením doc. RNDr. Františka Krčmy, Ph.D. a uviedla som v zozname všetky použité literárne i odborné zdroje. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemické VUT v Brne a môže byť využitá ku komerčným účelom iba so súhlasom vedúceho bakalárskej práce a dekana FCH VUT.

.....

Podpis studenta

## **POĎAKOVANIE**

Na tomto mieste by som sa rada poďakovala všetkým ľuďom v mojom živote, ktorí mi prejavili neskutočnú podporu nielen pri vypracovaní tejto práce, ale tiež v priebehu môjho štúdia. Najväčšie moje poďakovanie patrí predovšetkým vedúcemu mojej práce doc. RNDr. Františkovi Krčmovi, Ph.D., za jeho odbornú pomoc, čas a nespočítateľné rady, bez ktorých by táto práca, i v túto dobu, bola iba kostrou toho, čo je dnes. Veľká vďaka patrí aj Ing. Petre Matouškovej Ph.D., za ústretovosť, nápomocné jednanie a cenné rady pri riešení mikrobiologickej časti práce.

# Obsah

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b>	<b>9</b>
2.1	Plazma	9
2.1.1	Výskyt plazmy	9
2.1.2	Klasifikácia plazmy	10
2.1.3	Generácia plazmy pomocou elektrického výboja	11
2.1.4	DBD	12
2.1.4.1	Objemový dielektrický bariérový výboj (VDBD)	13
2.1.4.2	Povrchový dielektrický bariérový výboj (SDBD)	14
2.1.4.3	Koplanárny bariérový výboj	14
2.2	Plazmová sterilizácia	16
2.2.1	Základný princípy plazmovej sterilizácie	16
2.2.1.1	Účinok tepla	16
2.2.1.2	Efekt nabitých častíc	17
2.2.1.3	Vplyv UV žiarenia	17
2.2.1.4	Pôsobenie reaktívnych častíc	19
2.2.1.5	Inaktivačné krivky	20
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTÁLNA ČASŤ</b>	<b>22</b>
3.1	Experimentálna aparatura a pracovné podmienky	22
3.2	Mikrobiologická časť experimentu	25
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY</b>	<b>26</b>
4.1	Sterilizácia suchým vzduchom	26
4.2	Sterilizácia vlhkým vzduchom	27
4.3	Sterilizácia vlhkým vzduchom obohateným o kyslík	28
4.4	Sterilizácia biopolymérnych vlákien vlhkým vzduchom obohateným o kyslík	30
<b>5</b>	<b>ZÁVER</b>	<b>31</b>
<b>6</b>	<b>ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY</b>	<b>33</b>

# 1 ÚVOD

Sterilizáciou v mikrobiológii rozumieme fyzikálny alebo chemický postup odstránenia všetkých mikroorganizmov z daného predmetu alebo prostredia. Používanie moderných lekárskeho nástrojov v súčasnej medicíne stimuluje vývoj nových metód k sterilizácii teplo citlivých materiálov. Najbežnejšie dnes v praxi používané sterilizátory pracujú na báze využitia chemických látok. Stále však ostáva mnoho otázok týkajúcich sa karcinogénnych a toxických účinkov chemických derivátov absorbovaných na povrch sterilizovaného materiálu. Pri použití chemických látok vznikajú aj veľké problémy s následným spracovaním a uskladnením odpadu, ktorý pri tom vzniká.

Súčasná sterilizačná technika kladú nároky na dosiahnutie pracovných teplôt menších alebo rovných teplotám v konvenčných sterilizátoroch, kratšie expozičné časy, možnosť opracovania širokého rozsahu predmetov a materiálov, nízke náklady a v neposlednom rade bezpečnosť pre personál a pacientov.

Inaktivácia mikroorganizmov pomocou plazmy ponúka originálnu, stále však ešte pomerne málo preskúmanú, alternatívu využívajúcu vlastnosti elektrických výbojov v plyne. Hlavnými mechanizmami plazmovej sterilizácie sú interakcie fotónov UV žiarenia ako aj reaktívnych atómových a molekulových radikálov so živou hmotou. Tým sa stáva úplne odlišnou od klasických sterilizačných metód s perspektívnym využitím v budúcnosti.

V tejto práci je študovaný vplyv dielektrického bariérového výboja (DBD) pri sterilizácii vybraných druhov biopolymérov. Vplyv bol študovaný pri rôznych podmienkach a zmesi pracovných plynov pri dielektrickom plazmovom výboji. Ďalej boli sledované aj stresové faktory na činnosť sterilizácie ako aj jej samotný mechanizmus.

Používali sme modelový systém, aby sme sa naučili správne pracovať s prístrojom a mohli sme namerané výsledky porovnať s už známymi hodnotami z použitej literatúry. V závere sme použili nový perspektívny biopolymérny materiál.



## 2 TEORETICKÁ ČÁST

V tejto časti sa budem zaoberať teoretickým popisovaním plazmy. Bližšie priblížim jej zloženie, fungovanie a význam. Ďalej sa budem zaoberať a popisovať plazmovú sterilizáciu jej princíp fungovania a faktory, ktoré ju ovplyvňujú.

### 2.1 Plazma

Plazma, označovaná ako štvrté skupenstvo hmoty, je vysoko ionizovaný plyn zložený z elektrónov, iónov, neutrálnych atómov a molekúl, radikálov, častíc v excitovanom aj neexcitovanom stave. Plazma vykazuje kolektívne chovanie častíc a spĺňa podmienky kvazineutrality, čo znamená, že koncentrácia kladných a záporných nosičov náboja je v dostatočne veľkom objeme približne rovnaká.

Prvýkrát ju popísal anglický chemik a fyzik William Crookes v roku 1879 a nazval ju "radiant matter" – žiarivá hmota. Termín plazma zaviedol v roku 1928 americký fyzik Irving Langmuir [1].

Jednou zo základných fyzikálnych vlastností plazmy je jej elektrická vodivosť. Plazma pri vysokých teplotách môže byť vodivejšia ako kovové vodiče. Vďaka elektrickej vodivosti pôsobí na plazmu aj silné magnetické pole, ktoré bráni úniku nabitých častíc, čo sa dá využiť na izoláciu vysokoteplotnej plazmy pri extrémne vysokých teplotách. S narastajúcou koncentráciou nabitých častíc sa mení aj koeficient tepelnej vodivosti. U vysokoteplotnej plazmy je tepelná vodivosť určená elektrónovým plynom. V prípade vysokoteplotnej plazmy sa uplatňujú aj mechanizmy prenosu energie pri disociácii, excitácii či ionizácii molekúl. Viskozitu plazmy charakterizuje zložité správanie a môže dosahovať hodnoty porovnateľné s niektorými kvapalinami [1, 2].

#### 2.1.1 Výskyt plazmy

Plazma obsiahnutá vo hviezdach, medziplanetárnom a medzhviezdnom priestore tvorí viac ako 99 % známej vesmírnej hmoty a je v prevažnej miere silne ionizovaná. V blízkosti

Zeme sa nachádza v ionosfére, magnetosfére a vo Van Allenových radiačných pásoch. Počas búrky vzniká na krátku dobu v podobe bleskov.

Umelými zdrojmi plazmy sú najmä výbojky, stretávame sa s ňou čoraz častejšie v každodennom živote. V súčasnosti nadobúda obrovský význam použitie plazmových technológií v mikroelektronike, papiernictve, pri rezaní a zváraní elektrickým oblúkom, čistení odpadov, v zdravotníctve pri likvidácii rôznych škodlivín a podobne [1].

### 2.1.2 Klasifikácia plazmy

Plazma ako taká existuje v širokom rozsahu fyzikálnych parametrov, a z tohto hľadiska ju možno klasifikovať do rôznych skupín.

Čo sa týka teploty, delíme plazmu na vysokoteplotnú a nízokoteplotnú. Rozdelenie má charakter konvencie, pretože neexistujú fyzikálne dôvody určujúce presnú hranicu. Vysokoteplotná (rovnovážna) plazma sa vyznačuje tým, že všetky jej zložky sú v termodynamickej rovnováhe a stav možno charakterizovať jediným parametrom teplotou. Nízokoteplotnú plazmu ďalej rozdeľujeme na termálnu (kvázi rovnovážnu), jej zložky sú v lokálnej termodynamickej rovnováhe a netermálnu neizoelektrickú (nerovnovážnu alebo studenú) plazmu [3].

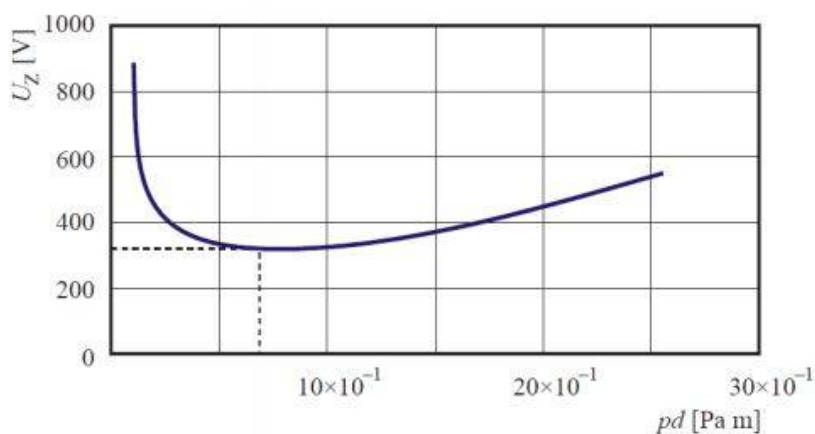
Tab. 1: Klasifikácia plazmy podľa teploty, údaje prevzaté z [3]

Plazma	Teplota a koncentrácia častíc		Použitie
Vysokoteplotná	$T > 10^6 \text{ K}, n \geq 10^{20} \text{ m}^{-3}$		termonukleárna fúzia
Nízokoteplotná	termálna	$T \approx 10^4 \text{ K}, n \geq 10^{20} \text{ m}^{-3}$	materiálové úpravy, likvidácia odpadov
	netermálna	$T = 300 \dots 10^3 \text{ K}, n \approx 10^{10} \text{ m}^{-3}$	plazmová chémia, sterilizácia

Z hľadiska koncentrácie nabitých častíc delíme plazmu na silne alebo slabo ionizovanú. Slabo ionizovaná plazma je plazma, v ktorej koncentrácia nabitých častíc je malá v porovnaní s koncentráciou neutrálnych molekúl. Dochádza teda prevažne k zrážkam nabitých častíc s neutrálnymi molekulami plynu. U silne ionizovanej plazmy koncentrácia nabitých častíc prevláda a dominujú vzájomné zrážky nabitých častíc. Vlastnosti aj teória slabo a silne ionizovanej plazmy sa výrazne líšia vďaka odlišnému charakteru síl pôsobiacich medzi časticami [16].

### 2.1.3 Generácia plazmy pomocou elektrického výboja

Generácia plazmy elektrickými výbojmi spočíva v urýchlňovaní elektrónov, ktoré sa v plyne náhodne nachádzajú. Medzi elektródami vonkajšieho elektrického poľa dosiahnu elektróny také rýchlosti (energie), pri ktorých sú schopné ionizovať molekuly plynu a tým kompenzovať úbytok nabitých častíc v plazme. Pri dostatočne vysokom napätí dochádza k zapáleniu výboja. Hodnota tohto tzv. zápalného napätia závisí na viacerých podmienkach systému, ako sú tlak plynu a jeho zloženie, vzdialenosť elektród, geometria elektródového systému, materiál elektród a podobne. Závislosť zápalného napätia výboja na súčine vzdialenosti elektród a tlaku plynu ( $pd$ ) vyjadruje Paschenova krivka (obr. 2). Pre každý plyn existuje určitá hodnota  $pd$ , pri ktorej je zápalné napätie výboja minimálne. Krivky pre rôzne plyny majú obdobný tvar, líšia sa len posunutím [3].



Obrázok 1: Paschenova krivka [4]

Pri nízkych tlakoch je stredná voľná dráha nabitých častíc veľká a nedochádza k častým vzájomným zrážkam. Elektróny majú v porovnaní s ťažšími iónmi malú hmotnosť a sú urýchľované na vysoké rýchlosti (energie). Teplota elektrónov je teda omnoho vyššia ako teplota ostatných častíc. V dôsledku ionizačných zrážok horúcich elektrónov pri nízkom tlaku vznikajú tzv. elektrónové lavíny. So zvyšujúcim sa tlakom dochádza čoraz k častejším vzájomným zrážkam častíc a plazma sa termalizuje. Elektrické výboje pri atmosférickom tlaku majú tendenciu generovať plazmu v podobe úzkych filamentov (streamerov), ktoré môžu prechádzať do iskry alebo oblúka. Takto horúca na viac silne nehomogénna plazma však nie je vhodná pre niektoré aplikácie, pretože môže dôjsť k tepelnému poškodeniu materiálu. Termalizácii plazmy pri vysokom tlaku možno zabrániť skrátením času výboja pod relaxačný čas elektrónov ( $\sim 10^{-6}$  s), a to napríklad použitím dielektrických bariérových výbojov (DBD), ktoré sú podrobnejšie opísané v nasledujúcej časti [4].

#### **2.1.4 DBD**

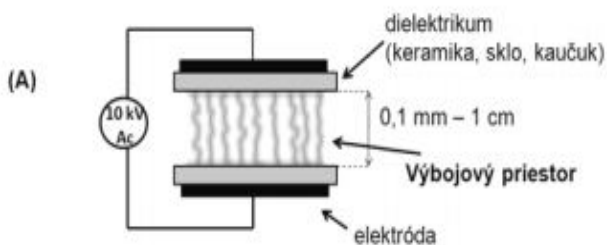
Dielektrické bariérové výboje, alebo jednoducho len bariérové výboje, sú známe už 160 rokov (ubehlo 160 rokov od prvého patentu) [4]. Prvé experimentálne využitie bolo zamerané na generáciu ozónu z atmosférického kyslíka výbojom medzi dvomi koaxiálnymi sklenenými tubami budeným striedavým elektrickým poľom. Novinkou bolo, že kovové elektródy boli umiestnené mimo výbojovej komory bez kontaktu s plazmou. Na začiatku 20. storočia bolo známe, že výboj budený planárnymi paralelnými elektródami pokrytými dielektrikom je tvorený veľkým počtom drobných krátkodobých prúdových filamentov, tzv. mikrovýbojov. Dlhé desaťročia bola generácia ozónu hlavným priemyselným využitím DBD najmä pri čistení a úprave vôd. Z tohto dôvodu sa im niekedy zvykne hovoriť aj “ozonizéry“. DBD generujú studenú nerovnovážnu plazmu pri atmosférickom tlaku so silným vplyvom lokálnych distorzií spôsobených akumuláciou priestorového náboja. Pretože dielektrikom bežne nemôže prechádzať jednosmerný prúd, je to práve dielektrická konštanta a hrúbka dielektrika v kombinácii so striedavým napätím, ktoré určujú množstvo prúdu prejdeného cez dielektrikum. To limituje aj energiu v jednotlivých výbojových kanáloch. Voľbou dielektrika je tak možné dosiahnuť filamentárnej štruktúry výboja (pre dielektrikum s vysokým  $\epsilon_r$ , napríklad  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). Alebo tiež homogénny výboj (malé  $\epsilon_r$ , napríklad sklá). Výboj je potom

označovaný ako Atmospheric pressure glow discharge (APGD). Najčastejšie používanými materiálmi dielektrika sú sklo, alebo keramika  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , v špeciálnych prípadoch ďalšie keramické materiály či polymérne vrstvy [4, 5].

Po dosiahnutí zápalného napätia pre danú frekvenciu dochádza k vzniku plazmy tvorenej veľkým počtom mikrovýbojov. Priestor medzi filamentami zaberá neionizovaný plyn, ktorý slúži ako absorbent uvoľnenej energie a produktov ionizovaného plynu. Pri väčšine aplikácii je potrebné chladenie aspoň jednej z pracovných elektród, napríklad vodou. Samotný plazmový priestor má dve elektródy, ktorých vzdialenosť sa dá nastavovať a elektródy majú plošnú veľkosť niekoľko desiatok milimetrov až niekoľko metrov v závislosti na aplikácii. Na spustenie výboja pri atmosférickom tlaku sa používa elektrické napätie v rozmedzí desiatok voltov až niekoľko kilovoltov a frekvencie rádovo kHz až MHz [1, 6]. Podľa usporiadania elektród, resp. orientácie mikrofilamentov rozdeľujeme dielektrické bariérové výboje na objemové, povrchové a koplanárne.

#### 2.1.4.1 Objemový dielektrický bariérový výboj (VDBD)

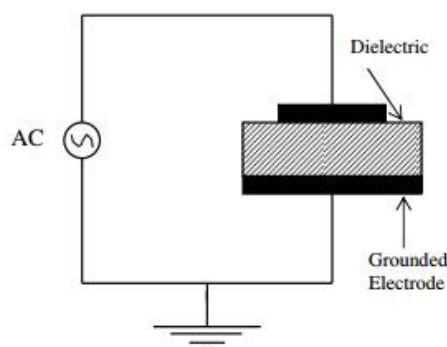
Generácia výboja prebieha medzi paralelnými rovinnými alebo koncentrickými valcovitými elektródami v homogénnom elektrickom poli v celom medielektródovom priestore (obr. 2). Štatisticky náhodné mikrovýboje sú orientované kolmo na rovinu dielektrika a ich počet rastie s veľkosťou priloženého napätia. Výhodou tohto usporiadania elektród je technická jednoduchosť, nízke nároky na dielektrickú pevnosť dielektrika a relatívne veľký objem plazmy. Nevýhodou je pomerne vysoká nehomogénnosť plazmy a nemožnosť opracovávať materiály hrubšie ako je vzdialenosť elektród (typicky 1 – 10 mm).



Obrázok 2: Schéma objemového DBD [7]

#### 2.1.4.2 Povrchový dielektrický bariérový výboj (SDBD)

U tohto typu výboja je dielektrická vrstva tvorená platničkou, väčšinou z oxidu hliníka (jedná sa o korundovanú keramiku), z jednej strany pokrytou paralelne uloženými kovovými páskovými elektródami a na opačnej strane plošnou elektródou, ktorá je uzemnená. Niekedy je usporiadanie naopak, záleží to od aplikácií. Oxid hlinitý sa vyznačuje výbornou tepelnou vodivosťou, dobrými protipriernymi vlastnosťami a vysokou chemickou odolnosťou. Mikrofilamenty vznikajú v smere pozdĺžnom s rovinou dielektrika po celom povrchu, čo umožňuje bezproblémový kontakt plazmy s povrchom opracovávaného materiálu. Relatívne malý objem plazmy je kompenzovaný jej vysokou výkonovou hustotou. Elektrické pole medzi elektródami planárnych povrchových bariérových výbojov je na rozdiel od predchádzajúceho takmer homogénne. Nevýhodou tohto usporiadania je nižšia životnosť elektród v dôsledku priameho kontaktu s generovanou plazmou [7].

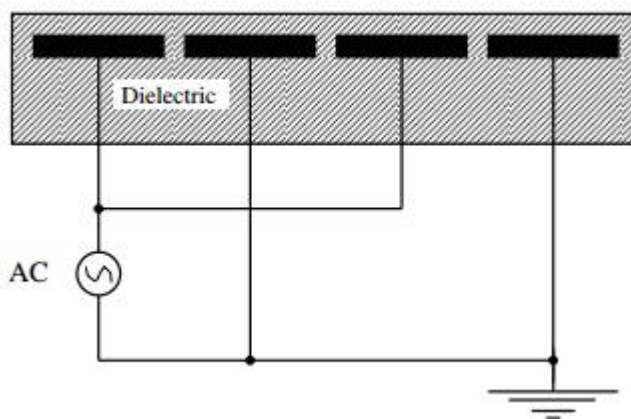


Obrázok 3: Schéma povrchového DBD [7]

#### 2.1.4.3 Koplanárny bariérový výboj

Koplanárny bariérový výboj vzniká na povrchu dielektrika medzi dvojicou paralelne usporiadaných elektród pásového tvaru opačnej polarizácie (obr. 3). Elektródy sú umiestnené vo vnútri dielektrika tesne pod povrchom. Elektrické pole je nehomogénne s maximom medzi elektródami v dielektriku. Hrúbka dielektrika, jeho permitivita a tvar elektród značne ovplyvňujú veľkosť poľa. Rozloženie mikrofilamentov je v priestore nad medzerou medzi elektródami a sú ukončené nevýraznou oblasťou difúzneho plazmy s vyššou plazmochemickou

účinnosťou. Keďže elektródy nie sú v kontakte s plazmou, a teda nedochádza k ich erózii, je toto usporiadanie z hľadiska životnosti a údržby veľmi výhodné. Ďalšou výhodou je, že nedochádza ku kontaminácii výboja materiálom elektród. Na druhú stranu, napríklad rozprašovanie Ag môže byť dobré pre baktericídny efekt.



Obrázok 4: Schéma koplanárneho DBD [18]

Dielektrické bariérové výboje majú široké využitie vo veľkom množstve technických aplikácií. Hlavnou výhodou oproti ostatným typom výbojov je možnosť pracovať s netermálnou plazmou a za atmosférického tlaku. Dnes sú DBD využívané napríklad ako generátory ozónu na čistenie odpadových, pitných aj bazénových vôd či zdroje žiarenia v oblasti UV spektra. Početné sú aplikácie pri povrchových úpravách materiálov, ochrane životného prostredia a v neposlednom rade aj pri výrobe plazmových panelov a displejov [17, 18].

V súčasnosti sa stále viac dostávajú do pozornosti účinky plazmy na inaktiváciu mikroorganizmov, čo ponúka originálny sterilizačný nástroj využiteľný napríklad v mikrobiológii alebo medicíne [18].

## **2.2 Plazmová sterilizácia**

V porovnaní s predchádzajúcimi sterilizačnými metódami využíva plazmová sterilizácia špecifické aktívne faktory, ktorými sú UV fotóny a chemické radikály (atómy alebo skupiny atómov s nepárovanými elektrónmi). K usmrteniu dochádza po metabolickej inaktivácii alebo rozpade vitálnych štruktúr mikroorganizmov. Jednou z výhod plazmových metód je možnosť sterilizácie za relatívne nízkych teplôt, a teda jej použitie u termolabilných materiálov. Absorpcia UV fotónov silne závisí na tlaku plynu v prostredí sterilizácie, a preto rozlišujeme dva typy sterilizátorov, atmosférické a sterilizačné systémy pracujúce za zníženého tlaku. Táto práca sa zaoberá plazmovou sterilizáciou za atmosférického tlaku, preto ďalší text je venovaný práve tomuto typu [8].

### **2.2.1 Základný princípy plazmovej sterilizácie**

#### **2.2.1.1 Účinok tepla**

Väčšina netermálnych plazmových výbojov pracuje na nižších teplotách nie príliš vzdialených od izbovej teploty (obvykle do 50°C), ktoré neumožňujú tepelnú sterilizáciu ako napríklad autoklavy, kde teplota dosahuje cca 200°C [9]. U nerovnovážnych výbojov je typické, že v určitom krátkom intervale dochádza na určitom mieste v priestore výboja k zvýšeniu lokálnej teploty. Toto krátkotrvajúce avšak intenzívne lokálne zahrievanie môže prispievať k celkovej inaktivácii a dezintegrácii mikroorganizmov. V prípade netermálnych dielektrických bariérových výbojov teplota v kanáli mikrovýboja dosahuje krátkodobo (niekoľko sekúnd) teploty až niekoľko stoviek stupňov. Hoci samotný efekt tepla priamo na sterilizáciu u netermálnych výbojov nie je výrazný, môže podstatne ovplyvniť účinok ostatných inaktivačných zložiek plazmy, napr. radikálov alebo nabitých častíc.

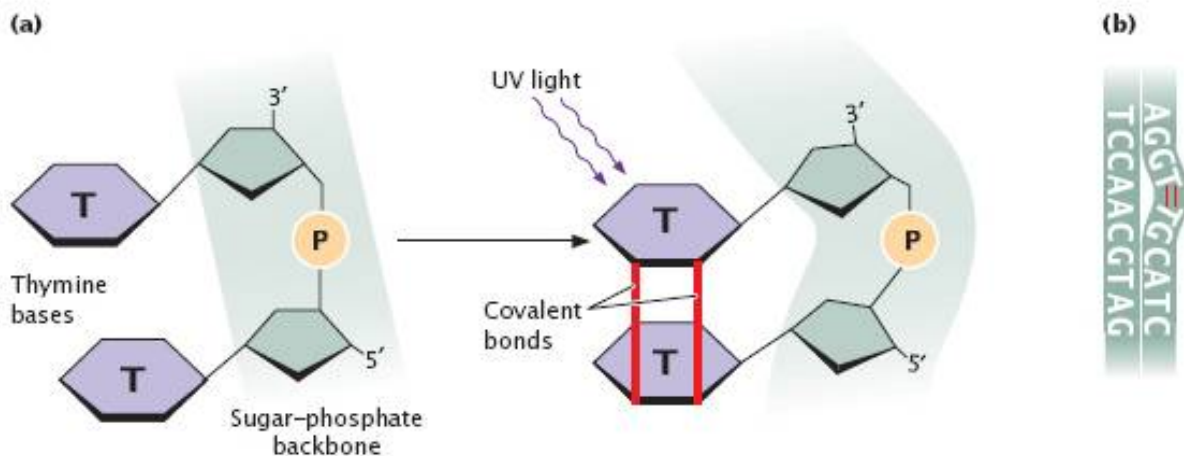


### 2.2.1.2 Efekt nabitých častíc

Nabité častice môžu hrať veľmi významnú úlohu v narušení bunecnej membrány mikrobiálnych buniek. Ak elektrostatická sila, ktorá vzniká nahromadením náboja častíc na vonkajšom povrchu membrány prekoná jej medzu pevnosti, dochádza k membránovému kolapsu a bunka hynie. Táto sila klesá s druhou mocninou polomeru krivosti bunecného povrchu a rastie s tzv. nabíjacím potenciálom, ktorý je priamo úmerný atómovej hmotnosti nabitej častice. Vplyvom pola dôjde k narušeniu membrány a vďaka tomu môže dôjsť k prieniku napríklad liečiv a iných látok do bunky [10, 11].

### 2.2.1.3 Vplyv UV žiarenia

Plazma je zdrojom UV žiarenia s odlišnými vlnovými dĺžkami, ktoré môžu byť v procese sterilizácie rôzne efektívne. Z fyzikálneho hľadiska delíme spektrum UV žiarenia na štyri intervaly vlnových dĺžok. Vákuové UV (VUV, 10 – 200 nm) žiarenie s vysokou energiou je schopné narušovať chemické väzby molekúl, jeho penetračná hĺbka je však veľmi malá (vo vode cca 100 nm). VUV je veľmi silne absorbované vodou a to vedie k fotolýze vody, kedy vzniká vysoko oxidatívny OH radikál. OH difunduje do objemu. Účinnosť UVA (315 – 400 nm) a UVB (280 – 315 nm) žiarenia je limitovaná nízkou energiou fotónov. Energia fotónov UVC (100 – 280 nm) žiarenia je dostatočne veľká na interakciu s organickými molekulami a vyznačuje sa pomerne dobrou penetračnou schopnosťou. Z hľadiska efektivity sterilizačného procesu hrá UVC žiarenie najväčšiu rolu [8]. Biologický účinok UV žiarenia na inaktiváciu mikroorganizmov je zložitý proces a pozostáva z viacerých mechanizmov. Jedným z nich je dimerizácia tymínových báz v mikrobiálnej DNA (obr. 5a). Dimérom rozumieme dve identické molekuly spojené k sebe pomocou kovalentnej väzby. Vplyvom UV žiarenia dochádza k vytvoreniu kovalentnej väzby medzi príslušnými tymínovými molekulami na rovnakom vlákne DNA (tzv. intrastrand väzba). Kovalentná väzba deformuje DNA vlákno tak, že dimér nedokáže správne zapadnúť do dvojšróbovice a narušuje funkcie DNA (obr. 5b). Takáto molekula potom nie je schopná replikácie a nedochádza k expresii génov, čo vedie k smrti bunky [10, 14, 15].

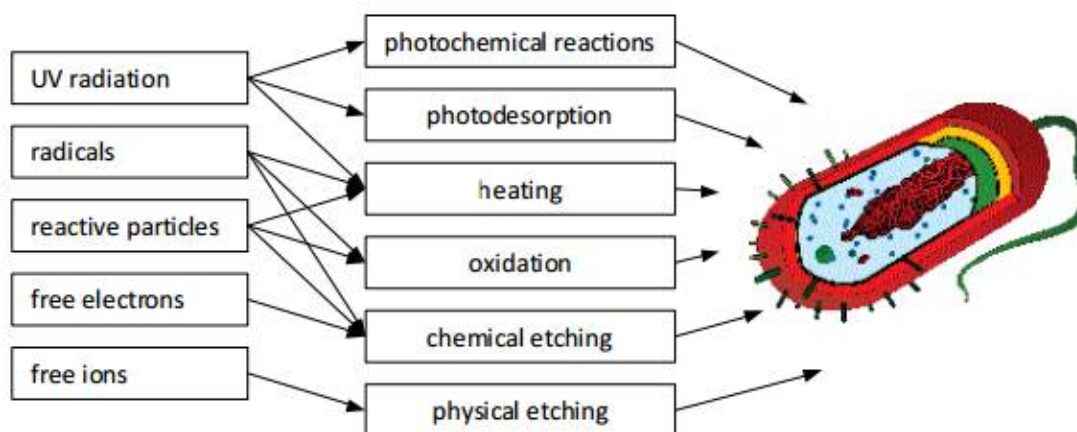


Obrázok 5: Vznik tymínového diméru účinkom UV žiarenia [14]

Iným sterilizačným účinkom UV žiarenia je fotodesorpcia. Fotóny s dostatočne vysokou energiou sú absorbované bunečnými biomolekulami a spôsobujú rozpad chemických väzieb až na atomárnu úroveň (tzv. leptanie). Z atómov sa potom formujú prchavé plynné zmesi a umožní sa ľahší prístup fotónom UV žiarenia k DNA [14]. Veľké množstvo baktérií a iných organizmov vrátane človeka má k dispozícii enzýmy, ktoré sú schopné katalyzovať opravu poškodenej DNA. Pretože UV žiarenie je zložkou slnečného svetla, bunky sú často vystavované dávkam tohto žiarenia a vyvinuli si určité opravné mechanizmy aj v tomto smere. Jednou z možností je tzv. fotoreparácia. Pomocou enzýmu fotolýzy za účasti viditeľného svetla dochádza k rozpadu kovalentnej väzby tymínového diméru. Výhodou mechanizmu je, že behom opravy nedochádza k vzniku vedľajších mutácií [11]. Enzýmy niektorých organizmov dokážu vystrihnúť porušený segment z vlákna DNA a pomocou iných enzýmov potom dochádza k syntéze nového vlákna. Funkčnosť mechanizmu nevyžaduje prítomnosť svetla, nevýhodou je ale možný vznik náhodných mutácií [15, 19].

#### 2.2.1.4 Pôsobenie reaktívnych častíc

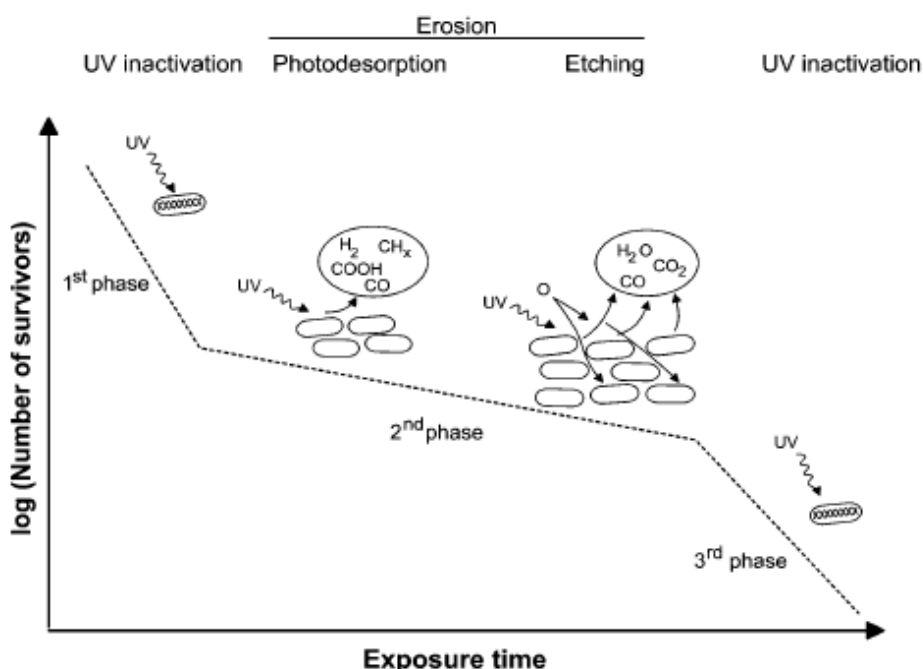
Častice generované v plazme excitáciou a disociáciou molekúl výrazne prispievajú svojimi účinkami k sterilizačnému procesu. Molekulárne alebo atomárne radikály sú častice s nepárovanými väzbovými elektrónmi, ktoré sa vyznačujú vysokou reaktivitou ( $\sim 10^9$  s). Vznik radikálov a ich zastúpenie vo výboji silne závisí na charaktere pracovného plynu. V atmosfére, ktorá je prevažne tvorená dusíkom, kyslíkom a vodnou parou, má najväčší význam účinok radikálov O, OH, NO a niektorých excitovaných molekúl v metastabilnom stave [12]. Oxidáciou biomolekúl dochádza k leptaniu bunčných štruktúr, ich rozpadu a vzniku jednoduchých látok (napr. CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O). Zasiahnuté sú najmä vrstvy bunčných stien tvorené fosfolipidmi a proteínmi, ktoré tak strácajú svoju ochrannú a transportnú funkciu. Interakciou radikálov s genetickým materiálom bunky môže niekedy dôjsť k narušeniu replikačnej schopnosti DNA, čo vedie k bunčnej smrti [11,16]. Možný germicídny účinok má aj generácia ozónu, ktorý ovplyvňuje bunčné dýchanie.



Obrázok 6: Aktívne zložky plazmovej sterilizácie a ich interakcia s biologickým materiálom [17]

### 2.2.1.5 Inaktivačné krivky

K analýze fyziokemických procesov plazmovej sterilizácie slúžia tzv. krivky prežitia, alebo inak povedené inaktivačné krivky. Krivka vyjadruje závislosť logaritmu počtu prežitých mikroorganizmov ako funkciu expozičného času v plazme. Pre konvenčné sterilizačné systémy, ako napríklad autoklávy, sú charakteristické krivky prežitia vo forme jednej priamej čiary, celý sterilizačný proces je exponenciálnou funkciou času. Naopak pri plazmových procesoch je inaktivačná krivka zložená z dvoch alebo troch odlišných lineárnych segmentov, takzvaných inaktivačných fáz (obr.7). To znamená, že počet prežívajúcich mikroorganizmov v jednotlivých segmentoch exponenciálne klesá, avšak s odlišnými časovými konštantami a teda aj s odlišnou kinetikou sterilizácie [21].



Obrázok 7: Schéma trojfázovej krivky prežitia, typická pre plazmovú sterilizáciu [22]

Na určenie efektivity sterilizácie bola v mikrobiológii zavedená tzv. D-hodnota ( $D$  = decimálna smrtiaca doba), ktorá vyjadruje čas potrebný k redukcii počtu mikroorganizmov na desatinu pôvodného množstva, a teda v logaritmickej meradle o faktor 1. Predpokladá sa, že rozdelenie krivky na inaktivačné fázy úzko súvisí s rozdielnymi

mechanizmami plazmovej sterilizácie. Počas prvej fázy pravdepodobne dochádza k deštrukcii genetického materiálu buniek UV žiarením. Účinok fotónov silne závisí na ich penetračnej hrúbke a teda na charaktere okolia a ochranných vrstiev mikroorganizmov. Ak je UV žiarenie dostatočne absorbované prostredím (napr. pri atmosférických tlakoch okolitým vzduchom alebo bunečnými spórami), môže byť priebeh prvej fázy výrazne potlačený alebo úplne odstránený [22].

Druhá fáza býva väčšinou najpomalšia, dochádza v nej k reakcii radikálov s materiálom mikroorganizmov a tiež k fotodesorpcii vplyvom pohlteneho UV žiarenia. Narušia sa tým ochranné vrstvy, ktoré doteraz chránili genetický materiál prežívajúcich buniek, čím sa umožní prístup fotónom v tretej fáze inaktivácie a bunky hynú podobným spôsobom ako v prvej fáze [22].

Podiel na vzniku viacfázových kriviek u plazmovej sterilizácie by pravdepodobne mohol mať aj pokles účinnosti bunečných opravných mechanizmov v čase. Až po uplynutí určitej expozičnej doby sú opravné mechanizmy vyradené z činnosti a bunky začínajú hynúť. Význam týchto mechanizmov však v súčasnosti nie je ešte úplne jasný.

Znalosť pravidiel hynutia mikroorganizmov ma značný praktický význam. Jednak pri zaistení ich úplného vymretia v prípade sterilizácie a jednak v situácii, kedy naopak chceme, aby organizmy ostali čo najdlhšie nažive. Teda v prípade uchovávanía dôležitých kmeňov [23].

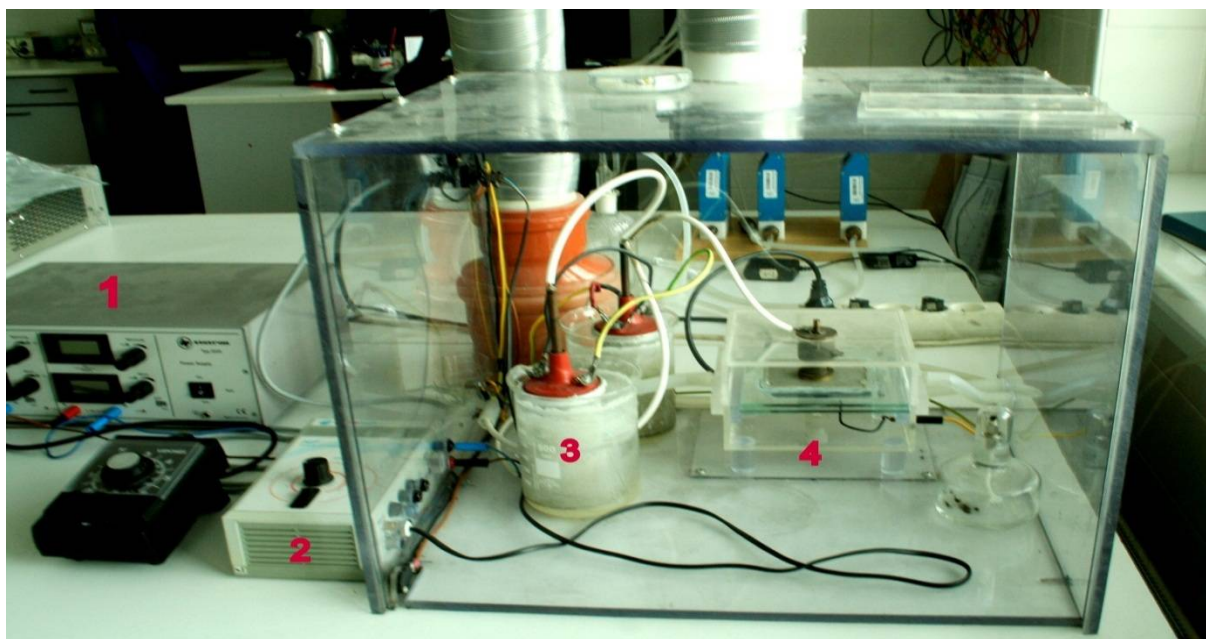
### 3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

Predmetom tejto práce je štúdium sterilizačných účinkov dielektrického bariérového výboja. V experimentálnej časti som sa zaoberala plazmovou sterilizáciou v objemovom bariérovom výboji. Ako sterilizovaný materiál bol zvolený papier Whatman 1 pri rôznych podmienkach zmesi pracovných plynov a rôznej dobe sterilizácie. Kontrolné mikroorganizmy boli pri štúdiu použité grampozitívne baktérie *Micrococcus Luteus* a gramnegatívne baktérie *Serratia Marcescens*. Vzorky mikroorganizmov boli nanášané na papier Whatman 1 a následne boli vystavené účinkom plazmatu s rôznou dobou trvania (expozičného času) pôsobenia plazmového výboja. Prietok zmesi pracovných plynov bol po celú dobu experimentálnej časti rovnaký objem 2 litre za minútu. Pre každú časovú dobu sterilizácie boli použité 3 vzorky papiera Whatman 1, na ktorom bolo nanesených 100 mikrolitrov baktérií v koncentráciách  $10^7$  až  $10^8$  baktérií na mililiter.

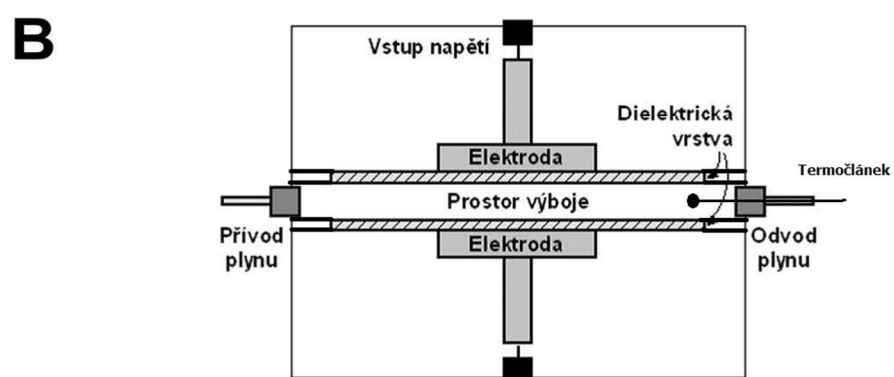
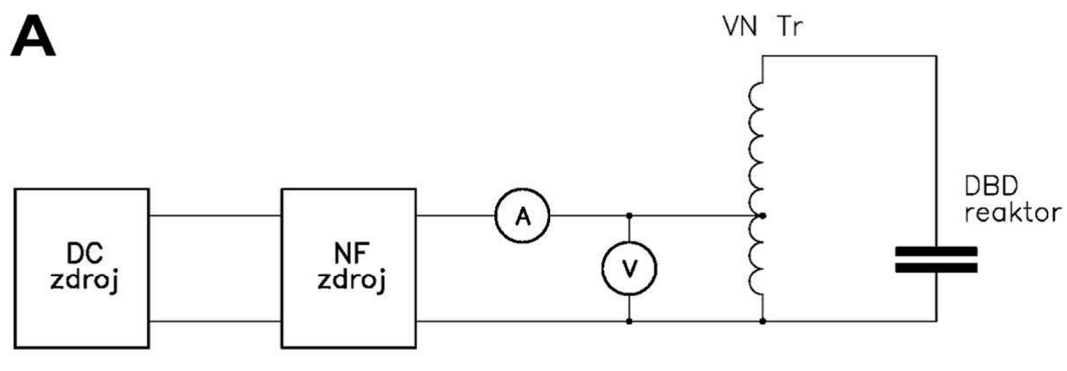
#### 3.1 Experimentálna aparatura a pracovné podmienky

Experimentálna aparatura bola vyrobená na PŕF MU doc. P. Sťahelom a pre naše podmienky upravená doc. F. Krčmou. Táto aparatura je založená na princípe objemového dielektrického bariérového výboja. Plazmové zariadenie sa skladá z regulovateľného zdroja jednosmerného (DC) napätia, vysokofrekvenčného zdroja, vysokonapäťového (HF) transformátoru a samotného DBD reaktoru. Výboj je generovaný medzi dvoma kovovými elektródami pokrytými dielektrickou bariérovou vrstvou. Napätie medzi elektródami môžeme pri danom usporiadaní meniť v rozsahu 3-10 kV, s frekvenciou do 15 kHz. Vnútorne rozmery DBD reaktoru sú  $90 \times 75 \text{ mm}^2$ . Objem výboja je potom daný plochou elektród  $90 \times 70 \text{ mm}$  a ich vzdialenosťou. Vzdialenosť elektród môžeme pomocou skrutky meniť. Pri experimente bola použitá vzdialenosť 2 mm pre všetky plyny. Ako materiál dielektrika je použité sodné sklo o hrúbke 0,3 mm. Aby bolo zabránené kontaminácii vzorku z okolí a naopak, bola aparatura umiestená v polykarbonátovom boxe s odťahovacím vchodom. Plazmová aparatura je zobrazená na obrázku č.8 a elektrický obvod experimentálnej aparatury a schéma reaktoru sú znázornené na obrázku č.9. Teplota bola meraná pomocou termočlánku typu K. Termočlánok bol vkladáný rovnako ako vzorky do priestoru medzi elektródy. Frekvencia 11 kHz bola

konštantná počas celého trvania experimentálnej časti. Plazma bola generovaná v prostredí suchého a vlhkého vzduchu a vzduchu obohateného o kyslík. Hustota energie bola podľa použitého plynu 1,2-2,0 W/cm<sup>3</sup>. Percentuálne zloženie použitých plynov dodávaných do prístroja dusík 4.0 99,99% a obsah kyslíka 2.5 99,5%. Sterilizačné účinky dielektrického bariérového výboja boli hodnotené z hľadiska vplyvu procesného plynu, zloženia plynu dodávaného do plazmatu, dĺžky expozičnej doby, typu mikroorganizmu a materiálu nosiča.



*Obrázok 8: Plazmové zariadenie: 1 - regulovateľný zdroj jednosmerného napätia;  
2 – vysokofrekvenčný zdroj; 3 - vysokonapäťový (VN) transformátor a 4 - DBD reaktor*



Obrázok 9: A – Schéma el. obvodu; B – Schéma DBD reaktoru [24]



### 3.2 Mikrobiologická časť experimentu

Roztoky mikroorganizmov boli pripravené v tekutom živnom médiu (agar značky Nutriell Broth w/1% Peptone (M 244-500G) od spoločnosti HIMEDIA). Baktérie boli v tomto médiu kultivované po dobu 24 hodín a následne nanášané na vzorku papiera Whatman 1 presne po 1 mililitri. Koncentrácia baktérií v 1 mililitri bola v rozmedzí od  $10^7$  –  $10^8$  buniek na mililiter.

Vzorky boli ponechané, aby sa baktérie vstreli do materiálu ďalších 24 hodín a následne prebehla sterilizácia pomocou DBD plazmového barierového výboja. Po sterilizácii boli vzorky prenášané do laboratória, ktoré disponuje sterilným boxom s UV žiarením, kde boli vzorky prenesené a obtlačené z oboch strán na Petriho misky so živným médiom.

Postup pre biopolymérne vlákna bol totožný s predchádzajúcim postupom, ale z hľadiska lepšieho uchytenia baktérií a manipulácie, sa vlákna neobtláčali ale celé ponorili do tekutého živného média. Konečným cieľom mojej práce do budúcnosti je sterilizácia biopolymérnych vlákien, ktoré by sa dali ďalej využívať.

Vzorky boli umiestnené na trepačky pri 37°C, kde sme po dobu 48 hodín monitorovali a pozorovali vznik kolónií baktérií a výsledky sme si zapisovali.

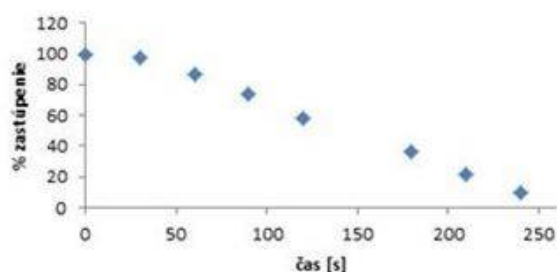
## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 Sterilizácia suchým vzduchom

Pri sterilizácii bol použitý syntetický suchý vzduch. Percentuálne zastúpenie laboratórnych plynov pri suchom vzduchu bolo 20 % kyslíka a 80 % dusíka, z toho vyplýva, že prietok plynu bol 0,40 litra kyslíka a 1,60 litra dusíka za 1 minútu.

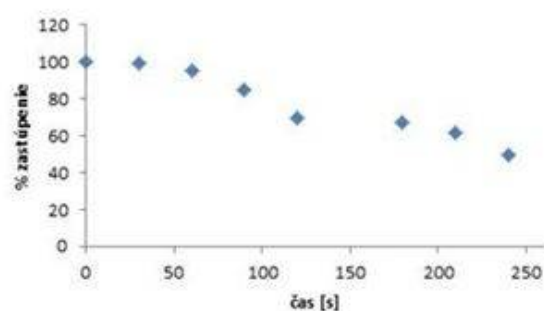
Pri grampozitívnej baktérii *Micrococcus Luteus* bol po sterilizácii pozorovaný následný percentuálny pokles zobrazený v tabuľke a grafe.

čas [s]	% zastúpenie baktérií na agare
0	100%
30	98%
60	87%
90	74%
120	58%
180	36%
210	22%
240	10%



Pri gramnegatívnej baktérii *Serratia Marcesceus* bol po sterilizácii pozorovaný následný percentuálny pokles zobrazený v tabuľke a grafe.

čas [s]	% zastúpenie baktérií na agare
0	100%
30	99%
60	95%
90	85%
120	70%
180	67%
210	62%
240	50%

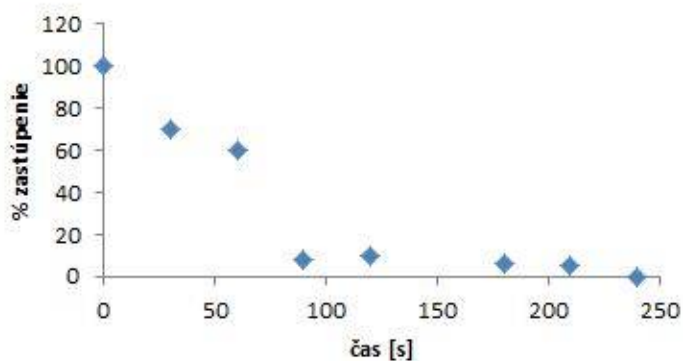


## 4.2 Sterilizácia vlhkým vzduchom

Pri sterilizácii bol použitý syntetický suchý vzduch, ktorý bol púšťaný cez vodu a následne vedený do aparatury. Percentuálne zastúpenie laboratórnych plynov pri vlhkom vzduchu bolo 20 % kyslíka a 80 % dusíka, z toho vyplýva že, prietok plynu bol 0,40 litra kyslíka a 1,60 litra dusíka za 1 minútu.

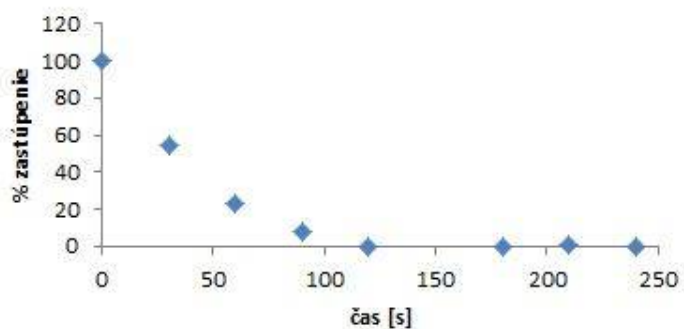
Pri grampozitívnej baktérii *Micrococcus Luteus* bol po sterilizácii pozorovaný následný percentuálny pokles zobrazený v tabuľke a grafe.

čas [s]	% zastúpenie baktérií na agare
0	100%
30	70%
60	60%
90	8%
120	10%
180	6%
210	5%
240	0%



Pri gramnegatívnej baktérii *Serratia Marcescens* bol po sterilizácii pozorovaný následný percentuálny pokles zobrazený v tabuľke a grafe.

čas [s]	% zastúpenie baktérií na agare
0	100%
30	54%
60	23%
90	8%
120	0%
180	0%
210	1%
240	0%

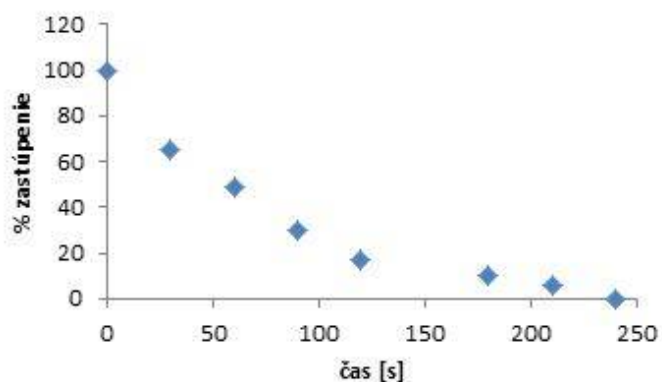


### 4.3 Sterilizácia vlhkým vzduchom obohateným o kyslík

Pri sterilizácii bol použitý syntetický suchý vzduch, ktorý bol púšťaný cez vodu a následne vedený do aparatury. Percentuálne zastúpenie laboratórnych plynov bolo 40 % kyslíka a 60 % dusíka, z toho vyplýva že, prietok plynu bol 0,80 litra kyslíka a 1,20 litra dusíka za 1 minútu.

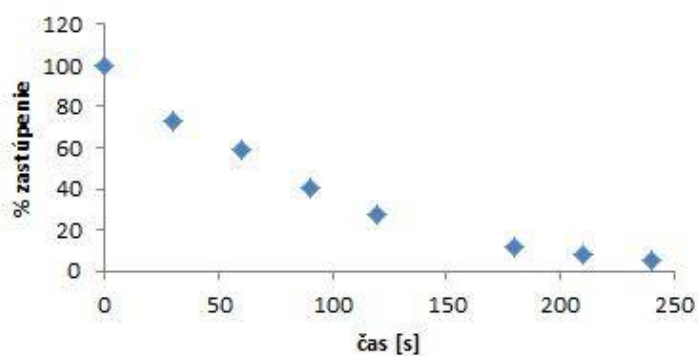
Pri grampozitívnej baktérii *Micrococcus Luteus* bol po sterilizácii pozorovaný následný percentuálny pokles zobrazený v tabuľke a grafe.

čas [s]	% zastúpenie baktérií na agare
0	100%
30	65%
60	49%
90	30%
120	17%
180	10%
210	6%
240	0%



Pri gramnegatívnej baktérii *Serratia Marcesceus* bol po sterilizácii pozorovaný následný percentuálny pokles zobrazený v tabuľke a grafe.

čas [s]	% zastúpenie baktérií na agare
0	100%
30	73%
60	59%
90	41%
120	28%
180	12%
210	8%
240	5%



Z experimentu je vidieť, že grampozitívna baktéria *Micrococcus Luteus* sa lepšie sterilizovala vo všetkých zmesiach plynu v porovnaní s gramnegatívnou baktériou *Serratia Marcesceus*.

Z tabuliek aj grafov je vidieť, že baktérie sa pri dlhšom čase vysterilizovali lepšie ako pri nižších časoch. Po vysterilizovaní pri nižších ale aj vyšších časoch sa lokálne objavili kolónie grampozitívne baktérie *Micrococcus Luteus* a gramnegatívne baktérie *Serratia Marcesceus*.

V niektorých vzorkách došlo ku kontaminácií pri nedostatočnom vplyve UV žiarenia počas sterilizácie pri prenášaní vzorkou do inej laboratória. Všade prítomné bacily, ktoré sa vyskytuje bežne majú odolnejšie spóry voči sterilizácií. Prostredie, v ktorom sa pracovalo, nebolo 100 % nikdy sterilné. Keď sa vzorky vyberali z prístroja, mohla nastať kontaminácia inými baktériami a bacilmi. Zapríčiňuje to nedostatočne sterilný priestor prístroja, manipulácia a prenášanie do iných priestorov. Cudzie baktérie a bacily sa tam mohli dostať teda aj spätne už po našej samotnej sterilizácií.

#### 4.4 Sterilizácia biopolymérnych vlákien vlhkým vzduchom obohateným o kyslík

Biopolymérne vlákna použité na tento experiment sú zložené z P<sub>3</sub>HB, majú obchodnú značku Hydal a sú od spoločnosti Nafigate Corporation. Vlákna boli hydrofóbne preto museli byť najprv ošetrené plazmov, čím sme docielili ich hydrofilizáciu. Po sterilizácii sa vlákna hydrofilizovali, vďaka tomu sme mohli na vlákna naniesť baktérie. Následne po sterilizácii boli vlákna vložené do tekutého média s baktériami, ktoré sa tu kultivovali 24 hodín. Po kultivácii boli vlákna zo živného média vybraté a opäť podstúpili sterilizáciu vo vyšších intervalových dobách a to 180 sekúnd, 210 sekúnd a 240 sekúnd. Vysterilizované vlákna sa sterilne v UV boxe preniesli opäť do tekutého živného média a pozorovali sme vývoj baktérií počas 48 hodín. Experiment bol úspešný, baktérie sa v 2 prípadoch neobjavili vôbec a v jednom len v minimálnom počte. DBD plazmový výboj môžeme použiť aj k sterilizácii biopolymérnych vlákien, bez rizika ich spálenia a za účelom ich sterilizácie.

Vlákno		Zväzok	
Váha pred sterilizáciou	Váha po sterilizácii	Váha pred sterilizáciou	Váha po sterilizácii
Doba sterilizácie 60 sekúnd			
0,005	0,006	0,061	0,070
0,011	0,012	0,056	0,069
0,004	0,005	0,069	0,089
0,006	0,007	0,056	0,082
0,007	0,008	0,070	0,096
Doba sterilizácie 120 sekúnd			
0,006	0,010	0,061	0,077
0,007	0,008	0,062	0,079
0,004	0,006	0,057	0,066
0,005	0,007	0,053	0,069
0,004	0,005	0,060	0,081
Doba sterilizácie 180 sekúnd			
0,008	0,009	0,060	0,080
0,003	0,004	0,051	0,061
0,008	0,012	0,054	0,068
0,005	0,006	0,053	0,078
0,005	0,006	0,050	0,067
Doba sterilizácie 180 sekúnd			
0,012	0,018	0,045	0,074
0,011	0,015	0,064	0,092
0,005	0,007	0,042	0,068
0,008	0,010	0,052	0,078
0,007	0,008	0,051	0,076

## 5 ZÁVER

V rámci predkladanej bakalárskej práce sa podarilo naplniť jednotlivé ciele tak, ako boli vytýčené. Výstupom celej práce je potvrdenie oprávnenosti našich predpokladov, že účinok dielektrického plazmového výboja môže byť v budúcnosti použitý ako alternatívna možnosť sterilizácie. Samotná práca je iba úvodným štúdiom do tejto problematiky, ale aj tieto základné výstupy sú dôležité, pretože dovoľujú udávať správny smer ďalším výskumom. V bakalárskej práci boli prezentované výsledky sterilizácie pomocou objemového dielektrického plazmového výboja (DBD) v prostredí suchého vzduchu, vlhkého vzduchu a vzduchu obohateného o kyslík. Ako modelové mikroorganizmy boli pri štúdiu použité grampozitívne baktérie *Micrococcus Luteus* a gramnegatívne baktérie *Serratia Marcescens*. Vzorky mikroorganizmov boli nanášané na povrch pevného nosiča, ktorým bol papier Whatman 1 a biopolymérne vlákna. Sterilizačné účinky DBD boli vyhodnocované z hľadiska vplyvu zloženia, zastúpenia a hustoty plynu dodávaného do plazmového výboja, dĺžky expozičnej doby a typu mikroorganizmov.

Fyziologický stav mikrobiálnych buniek po expozícií plazmatom bol vyhodnotený pomocou otlačkov a platňovej kultivačnej metódy. Táto kvantitatívna metóda poskytuje informácie o zastúpení životaschopných buniek v populáciách.

Obecne môžeme na základe výsledkov povedať, že s narastajúcou expozičnou dobou klesá počet životaschopných mikroorganizmov. Z tabuliek a grafov môžeme tiež vyčítať, že inaktivácia v plazme prebiehala v rôznych fázach s odlišnou rýchlosťou a účinnosťou. Na základe výsledkov bolo zistené, že príspevky jednotlivých mechanizmov, tj. UV žiarenia, teploty a reaktívnych častíc, sa môže líšiť v závislosti na použitom modelovom mikroorganizme, čo je dané odlišnou citlivosťou mikroorganizmov voči nepriaznivým vonkajším vplyvom.

Z výsledkov práce môžeme povedať, že sterilizácia pomocou DBD generovaného v prostredí suchého, vlhkého a vzduchu obohateného o kyslík je účinná sterilizačná metóda.

Ako najlepšia sterilizačná metóda sa ukázala sterilizácia pomocou DBD generovaného vo vlhkom vzduchu obohatenom o kyslík.

Použitá metóda s otlačkom na agar sa ukázala ako vhodná pre papier Whatman 1, ale do budúcnosti bude potreba s ohľadom na presnosť a štruktúru vzorkou používať skôr metódu tekutého živného média, v ktorom by sa baktérie následne kultivovali a ich kolónie by sa počítali. Tak ako to bolo použité pri sterilizácii biopolymérnych vlákien. Berieme to s ohľadom na množstvo kolónii, ktoré sa budú musieť častejšie riediť a podobne, čím sme sa však teraz nemuseli moc zaoberať.



## 6 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] NESTER, E. W. ROBERTS, C. E. (1998). *Microbiology: A human perspective*. 2nd ed. Boston: Mass. WCB McGraw-Hill, 1998. p. 848. ISBN 06-972-8602-9.
- [2] VOTAVA, M. (2005). *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. vyd. Brno: Neptun, 2005. s. 351. ISBN 80-868-5000-5.
- [3] BONNIZZONI, G. VASSALLO, E. (2002). *Plasma physics and technology: Industrial applications*. Vacuum, 2002. Vol.64, p. 327-336.
- [4] MARTIŠOVITŠ, V. (2006). *Základy fyziky plazmy: učebný text pre magisterské štúdium*. 1. vyd. Bratislava: Univerzita Komenského, 2006. s. 189. ISBN 80-223-1983-X.
- [5] FRIDMAN, A. (2008). *Plasma chemistry*. 1st ed. New York: Cambridge University Press, 2008. p. 978. ISBN 978-0-521-84735-3.
- [6] KOGELSCHATZ, U. (2003). *Dielectric-barrier Discharges: Their History, Discharge Physics, and Industrial Applications*. Plasma Chemistry and Plasma Processing, March 2003. Vol. 23, No. 1, p. 1-46.
- [7] XUEJI XU. (2001). *Dielectric barrier discharge properties and applications*. Thin Solid Films, 2001. Vol. 390, p. 237-242.
- [8] MEINERS, A. LECK, M. ABEL, B. (2009). *Multiple parameter optimization and spectroscopic characterization of a dielectric barrier discharge in N<sub>2</sub>*. Plasma Sources Science and Technology, 2009. Vol. 18, No. 4, p. 045015-045015. ISSN 0963-0252
- [9] M.A LIEBERMAN, A.J LICHTENBERG: *Principles of plasma discharges and materials processing*.

- [10] VOTAVA, M. (2003). *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. s. 495. ISBN 80-902-8966-5.
- [11] HALEY, R.W. et al. (1985). *The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US hospitals*. American Journal of Epidemiology, Feb. 1985. Vol. 121, No. 2, p.182-205.
- [12] MOISAN, M. BARBEAU, J. (2002). *Plasma sterilization. Methods and mechanism*. Pure and Applied chemistry, 2002. Vol. 74, No. 3, p. 349-358.
- [13] LAROUSSI, M. LEIPOLD, F. (2004). *Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure*. International Journal of Mass Spectrometry, 2004. p. 81-86.
- [14] Scitable. (2013). [online]. [cit. 2013-01-16]. Dostupné na:  
<<http://www.nature.com/scitable/content/pyrimidine-dimers-result-from-ultraviolet-light-a-19185>>
- [15] LAROUSSI, M. (2004). *Low Temperature Plasma-Based Sterilization: Overview and State-of-the-Art*. Plasma Proces and Polymers, 2005. Vol. 2, p. 391-400.
- [16] MENDIS, D.A. ROSENBERG, M. - AZAM, F. (2000). *A note on the possible electrostatic disruption of bacteria*. IEEE Transactions on Plasma Science, 2000. Vol. 28, No. 4, p. 1304. ISSN 0093-3813.
- [17] ROTH, S. FEICHTINGER, J. HERTEL, C. (2010). *Characterization of Bacillus subtilis spore inactivation in low-pressure, low-temperature gas plasma sterilization processes*. Journal of Applied Microbiology, 2010. Vol. 108, No. 2, p. 521-531.

- [12] PELLETIET, J. (1993). *Sterilization by the plasma procedure*. Agressologie 33, 1993. p. 105–110.
- [13] LAROUSSE, M. MENDIS, D.A. ROSENBERG, M. (2003). *Plasma interaction with microbes*. New Journal of Physics, 2003. Vol. 5, 41.1-41.10. ISSN 1367-2630.
- [14] KAPRÁLEK, F. (2000). *Základy bakteriologie*. Praha: Karolinum, 2000. s. 241. ISBN 80-718-4811-5.
- [15] GREENWOOD, D. SLACK, R. PEUTHERER, J. (1999). *Lékařská mikrobiologie, přehled infekčních onemocnění: patogenese, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 1999. s. 686. ISBN 80-716-9365-0.
- [18] XUEJI XU. (2001). *Dielectric barrier discharge properties and applications*. Thin Solid Films, 2001. Vol. 390, p. 237-242
- [19] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. KUTKOVÁ, M. (1961). *Atlas kvasinek a kvasinkových mikroorganismů*. Praha, 1961. s. 344.
- [21] GREENWOOD, D. SLACK, R.–PEUTHERER, J. (1999). *Lékařská mikrobiologie, přehled infekčních onemocnění: patogenese, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 1999. s. 686. ISBN 80-716-9365-0.
- [22] MOISAN, M. BARBEAU, J. (2002). *Plasma sterilization. Methods and mechanism*. Pure and Applied chemistry, 2002. Vol. 74, No. 3, p. 349-358.
- [23] HERTEL, C. SCHMIDT, H. KOHLUS, R. (2011). *Investigations on the Mechanism of Sterilization by Non-Thermal Low-Pressure Nitrogen-Oxygen Plasmas*. dizertačná práce, Univerzita Hohenheim, 2011.
- [24] Ing. JITKA SLÁMOVÁ (2013) *Studium sterilizačních účinků dielektrického bariérového výboje*. Brno 2013. Dizertační práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedúci práce Doc. RNDr. František Krčma Ph.D.